

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-324097

(43)Date of publication of application : 12.12.1995

(51)Int.Cl.

C07K 14/52  
A61K 38/00  
A61K 38/00  
A61K 38/00  
C07K 5/10  
C07K 7/06  
C07K 7/08

(21)Application number : 06-117259

(71)Applicant : DAICEL CHEM IND LTD  
FUJISAWA PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 30.05.1994

(72)Inventor : KAWAMOTO TAKAFUMI  
ITO MASAOKI  
KIMURA HITOSHI  
SENOO HACHIRO  
SEKI NOBUO

## (54) INTERLEUKIN 6 ANTAGONIST, PEPTIDES OR PHARMACEUTICALLY PERMISSIBLE SALTS THEREOF

## (57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a new peptide (salt) having a specific amino acid sequence, antagonistically acting on interleukin 6 (IL-6), inhibiting the active expression and useful for treating autoimmune diseases, etc.

CONSTITUTION: These new peptides (salts) expressed by the formula X-W-Y (X is H, an amino-protecting group; Y is OH or a carboxy protecting group; W is a divalent group excluding one hydrogen atom from N end of a peptide continuously containing all or a part of an amino acid sequence expressed by formula I, formula II, etc., and excluding OH from the C end of the peptide, with the proviso that a free mercapto group in the amino acid sequence may be protected) and suitable for treating autoimmune diseases, etc., as an interleukin 6 antagonist capable of inhibiting the expression of activity of interleukin 6 by antagonistically acting on interleukin 6. These peptides are obtained by using conventional peptide synthesis, e.g., solid phase synthetic method or liquid phase synthetic method.

-Thr-Ser-Ser-Glu-Arg-Ile-Asp-Lys-Gln-Ile-Arg  
-Tyr-Ile-Leu-Asp-Gly-Ile-Ser-Ala-Leu-Arg-Lys-Glu-I  
-Cys-Asn-Lys-Ser-Asn-Met-Cys-Gln-Ser-Ser-Lys-Glu  
-Ala-Leu-Ala-Glu-Asn-Asp-Leu-Asn-Leu-Pro-Lys-Met-A  
-Ile-Gln-Lys-

I

-Lys-Val-Leu-Ile-Gln-Phe-Leu-Gln-Lys-Lys-Ala  
-Lys-Asn-Leu-Asp-Ala-Ile-Thr-Thr-Phe-Arg-Phe-Thr-I  
-Asn-Ala-Ser-Leu-Leu-Tyr-Lys-Leu-Gln-Ala-Phe-Asn  
-Gln-Trp-Leu-Gln-Asp-Met-Tyr-Thr-Ala-Leu-Ile-Leu-A  
-Arg-Ser-Phe-Lys-Glu-Phe-Leu-Gln-Ser-Ser-Leu-Arg-Ala  
-Leu-Arg-Gln-Met-

II

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than

the examiner's decision of rejection or  
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision  
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-324097

(43) 公開日 平成7年(1995)12月12日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 14/52	Z N A	8318-4H		
A 6 1 K 38/00	A B G			
	A B H			
		A 6 1 K 37/ 02	A B G	
			A B H	

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 19 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平6-117259	(71) 出願人	000002901 ダイセル化学工業株式会社 大阪府堺市鉄砲町1番地
(22) 出願日	平成6年(1994)5月30日	(71) 出願人	000005245 藤沢薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町3丁目4番7号
		(72) 発明者	河本 隆文 つくば市千現1-14-14 パークハイツ千現301号
		(72) 発明者	伊藤 雅章 つくば市花畑2-13-12-504
		(74) 代理人	弁理士 植木 久一
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インターロイキン6拮抗剤、及びペプチド類または医薬として許容されるその塩類

(57) 【要約】

【目的】 インターロイキン6に対して拮抗的に作用し、その活性発現を阻害することのできるインターロイキン6拮抗剤を提供する。

【構成】 一般式 (I) : X-W-Y

(式中、Xは水素またはアミノ保護基、Yは水酸基またはカルボキシ保護基、Wは以下のA等で示されるアミノ酸配列の全部、またはその一部を連続して含むペプチドのN末端から水素原子を1個除き、且つ該ペプチドのC末端から水酸基を1個除いた2価の基を表す。) で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類、及び医薬として許容される担体を含有するインターロイキン6拮抗剤である。

A : Thr-Ser-Ser-Glu-Arg-Ile-Asp-Lys-Gln-Ile-Arg-Tyr-Ile-Leu-Asp-Gly-Ile-Ser-Ala-Leu-Arg-Lys-Glu-Thr-Cys-Asn-Lys-Ser-Asn-Met-Cys-Glu-Ser-Ser-Lys-Glu-Ala-Leu-Ala-Glu-Asn-Asn-Leu-Asn-Leu-Pro-Lys-Met-Ala-Glu-Lys

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 一般式 (I) : X-W-Y

(式中、Xは水素またはアミノ保護基、

Yは水酸基またはカルボキシ保護基、

Wは以下のA～Dのいずれかで示されるアミノ酸配列の全部、またはその一部を連続して含むペプチドのN末端から水素原子を1個除き、且つ該ペプチドのC末端から水酸基を1個除いた2価の基を表す。但し、Wにおいて該アミノ酸配列中の遊離のメルカプト基は、メルカプト保護基で保護されていてもよい。)で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類、及び医薬として許容される担体を含むことを特徴とするインターロイキン6拮抗剤。

A: -Thr-Ser-Ser-Glu-Arg-Ile-Asp-Lys-Gln-Ile-Arg-Tyr-Ile-Leu-Asp-Gly-Ile-Ser-Ala-Leu-Arg-Lys-Glu-Thr-Cys-Asn-Lys-Ser-Asn-Met-Cys-Glu-Ser-Ser-Lys-Glu-Ala-Leu-Ala-Glu-Asn-Asn-Leu-Asn-Leu-Pro-Lys-Met-Ala-Glu-Lys-

B: -Lys-Val-Leu-Ile-Gln-Phe-Leu-Gln-Lys-Lys-Ala-Lys-Asn-Leu-Asp-Ala-Ile-Thr-Thr-Pro-Asp-Pro-Thr-Thr-Asn-Ala-Ser-Leu-Leu-Thr-Lys-Leu-Gln-Ala-Gln-Asn-Gln-Trp-Leu-Gln-Asp-Met-Thr-Thr-His-Leu-Ile-Leu-Arg-Ser-Phe-Lys-Glu-Phe-Leu-Gln-Ser-Ser-Leu-Arg-Ala-Leu-Arg-Gln-Met-

C: -Ser-Cys-Phe-Arg-Lys-Ser-Pro-Leu-Ser-Asn-Val-Val-Cys-Glu-Trp-Gly-Pro-Arg-Ser-Thr-Pro-Ser-Leu-Thr-Thr-Lys-Ala-Val-Leu-Leu-Val-Arg-Lys-Phe-Gln-Asn-Ser-Pro-Ala-Glu-Asp-Phe-Gln-Glu-Pro-Cys-Gln-Tyr-Ser-Gln-Glu-Ser-Gln-Lys-Phe-Ser-Cys-Gln-Leu-Ala-Val-Pro-Glu-Gly-Asp-Ser-Ser-Phe-Tyr-Ile-Val-Ser-Met-Cys-Val-Ala-Ser-Ser-Val-Gly-Ser-Lys-Phe-Ser-Lys-Thr-Gln-Thr-Phe-Gln-Gly-Cys-Gly-Ile-Leu-Gln-Pro-Asp-Pro-Pro-Ala-Asn-Ile-Thr-Val-Thr-Ala-Val-Ala-Arg-Asn-Pro-Arg-Trp-Leu-Ser-Val-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-His-Ser-Trp-Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-Phe-Glu-Leu-Arg-Tyr-Arg-Ala-Glu-Arg-Ser-Lys-Thr-Phe-Thr-Thr-Trp-Met-Val-Lys-Asp-Leu-Gln-His-His-Cys-Val-Ile-His-Asp-Ala-Trp-Ser-Gly-Leu-Arg-His-Val-Val-Gln-Leu-Arg-Ala-Gln-Glu-Glu-Phe-Gly-Gln-Gly-

D: -Gly-Leu-Pro-Pro-Glu-Lys-Pro-Lys-Asn-Leu-Ser-Cys-Ile-Val-Asn-Glu-Gly-Lys-Lys-Met-Arg-Cys-Glu-Thr-Asp-Gly-Gly-Arg-Glu-Thr-His-Leu-Glu-Thr-Asn-Phe-Thr-Leu-Lys-Ser-Glu-Trp-Ala-Thr-His-Lys-Phe-Ala-Asp-Cys-Lys-Ala-Lys-Arg-Asp-Thr-Pro-Thr-Ser-Cys-Thr-Val-Asp-Tyr-Ser-Thr-Val-Tyr-Phe-Val-Asn-Ile-Glu-Val-Trp-Val-Glu-Ala-Glu-Val-Ala-Leu-Gly-Lys-Val-Thr-Ser-Asp-His-Ile-Asn-Phe-Asp-Pro-Val-Tyr-Lys-Val-Lys-Pro-Asn-Pro-Pro-His-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Asn-Ser-Glu-Glu-Leu-Ser-Ser-Ile-Leu-Lys-Leu-Thr-Trp-Thr-Asn-Pro-Ser-Ile-Lys-Ser-Val-Ile-Ile-Leu-Lys-Tyr-Asn

-Ile-Gln-Tyr-Arg-Thr-Lys-Asp-Ala-Ser-Thr-Trp-Ser-Gln-Ile-Pro-Pro-Glu-Asp-Thr-Ala-Ser-Thr-Arg-Ser-Ser-Phe-Thr-Val-Gln-Asp-Leu-Lys-Pro-Phe-Thr-Glu-Tyr-Val-Phe-Arg-Ile-Arg-Cys-Met-

【請求項 2】 Aの一部を連続して含むものが、下記式

(1)～式(7)のいずれかで示される請求項1に記載のインターロイキン6拮抗剤。

式(1): -Lys-Gln-Ile-Arg-Tyr-

式(2): -Tyr-Ile-Leu-Asp-Gly-

式(3): -Glu-Ser-Ser-Lys-Glu-

式(4): -Ser-Lys-Glu-Ala-Leu-

式(5): -Lys-Glu-Ala-Leu-Ala-

式(6): -Glu-Ala-Leu-Ala-Glu-

式(7): -Leu-Ala-Glu-Asn-Asn-

【請求項 3】 Bの一部を連続して含むものが、下記式

(8)～式(23)のいずれかで示される請求項1に記載のインターロイキン6拮抗剤。

式(8): -Gln-Lys-Lys-Ala-Lys-

式(9): -Lys-Lys-Ala-Lys-Asn-

式(10): -Ala-Lys-Asn-Leu-Asp-

式(11): -Lys-Asn-Leu-Asp-Ala-

式(12): -Ile-Thr-Thr-Pro-Asp-

式(13): -Asp-Pro-Thr-Thr-Asn-

式(14): -Ala-Ser-Leu-Leu-Thr-

式(15): -Leu-Thr-Lys-Leu-Gln-

式(16): -Lys-Leu-Gln-Ala-Gln-

式(17): -Gln-Trp-Leu-Gln-Asp-

式(18): -His-Leu-Ile-Leu-Arg-

式(19): -Leu-Arg-Ser-Phe-Lys-

式(20): -Arg-Ser-Phe-Lys-Glu-

式(21): -Ser-Ser-Leu-Arg-Ala-

式(22): -Leu-Arg-Ala-Leu-Arg-

式(23): -Lys-Glu-Phe-Leu-Gln-Ser-Ser-Leu-Arg-

【請求項 4】 Cの一部を連続して含むものが、下記式

(24)～式(31)のいずれかで示される請求項1に記載のインターロイキン6拮抗剤。

式(24): -Glu-Glu-Phe-Gly-Gln-Gly-

式(25): -Ser-Ser-Phe-Tyr-

式(26): -Cys(Acm)-Phe-Arg-Lys-Ser-Pro-Leu-Ser-

-Asn-Val-Val-Cys(Acm)-

(式中、AcmはCys中のメルカプト基を保護するアセトアミドメチル基を示す。)

式(27): -Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-

式(28): -Ala-Val-Pro-Glu-Gly-

式(29): -Glu-Gly-Asp-Ser-Ser-

式(30): -Ile-Leu-Gln-Pro-Asp-

式(31): -Ala-Arg-Asn-Pro-Arg-

【請求項 5】 Dの一部を連続して含むものが、下記式

(32)～式(38)のいずれかで示される請求項1に記載のインターロイキン6拮抗剤。

3

式(32): -Glu-Trp-Ala-Thr-His-Lys-  
 式(33): -Asn-Glu-Gly-Lys-Lys-  
 式(34): -Glu-Glu-Leu-Ser-Ser-  
 式(35): -Ile-Ile-Leu-Lys-Tyr-  
 式(36): -Ile-Leu-Lys-Tyr-Asn-  
 式(37): -Thr-Val-Gln-Asp-Leu-  
 式(38): -Gln-Asp-Leu-Lys-Pro-

【請求項6】 一般式(I): X-W-Y

(式中、Xは水素またはアミノ保護基、

Yは水酸基またはカルボキシ保護基、

Wは以下の式(1)~(38)のいずれかで示されるアミノ酸配列を含むペプチドのN末端から水素原子を1個除き、且つ該ペプチドのC末端から水酸基を1個除いた2価の基を表す。但し、Wにおいて該アミノ酸配列中の遊離のメルカプト基は、メルカプト保護基で保護されていてもよい。)で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類。

式(1): -Lys-Gln-Ile-Arg-Tyr-  
 式(2): -Tyr-Ile-Leu-Asp-Gly-  
 式(3): -Glu-Ser-Ser-Lys-Glu-  
 式(4): -Ser-Lys-Glu-Ala-Leu-  
 式(5): -Lys-Glu-Ala-Leu-Ala-  
 式(6): -Glu-Ala-Leu-Ala-Glu-  
 式(7): -Leu-Ala-Glu-Asn-Asn-  
 式(8): -Gln-Lys-Lys-Ala-Lys-  
 式(9): -Lys-Lys-Ala-Lys-Asn-  
 式(10): -Ala-Lys-Asn-Leu-Asp-  
 式(11): -Lys-Asn-Leu-Asp-Ala-  
 式(12): -Ile-Thr-Thr-Pro-Asp-  
 式(13): -Asp-Pro-Thr-Thr-Asn-  
 式(14): -Ala-Ser-Leu-Leu-Thr-  
 式(15): -Leu-Thr-Lys-Leu-Gln-  
 式(16): -Lys-Leu-Gln-Ala-Gln-  
 式(17): -Gln-Trp-Leu-Gln-Asp-  
 式(18): -His-Leu-Ile-Leu-Arg-  
 式(19): -Leu-Arg-Ser-Phe-Lys-  
 式(20): -Arg-Ser-Phe-Lys-Glu-  
 式(21): -Ser-Ser-Leu-Arg-Ala-  
 式(22): -Leu-Arg-Ala-Leu-Arg-  
 式(23): -Lys-Glu-Phe-Leu-Gln-Ser-Ser-Leu-Arg-  
 式(24): -Glu-Glu-Phe-Gly-Gln-Gly-  
 式(25): -Ser-Ser-Phe-Tyr-  
 式(26): -Cys(Acm)-Phe-Arg-Lys-Ser-Pro-Leu-Ser-  
 -Asn-Val-Val-Cys(Acm)-

(式中、AcmはCys中のメルカプト基を保護するアセトアミドメチル基を示す。)

式(27): -Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-  
 式(28): -Ala-Val-Pro-Glu-Gly-  
 式(29): -Glu-Gly-Asp-Ser-Ser-  
 式(30): -Ile-Leu-Gln-Pro-Asp-

4

式(31): -Ala-Arg-Asn-Pro-Arg-  
 式(32): -Glu-Trp-Ala-Thr-His-Lys-  
 式(33): -Asn-Glu-Gly-Lys-Lys-  
 式(34): -Glu-Glu-Leu-Ser-Ser-  
 式(35): -Ile-Ile-Leu-Lys-Tyr-  
 式(36): -Ile-Leu-Lys-Tyr-Asn-  
 式(37): -Thr-Val-Gln-Asp-Leu-  
 式(38): -Gln-Asp-Leu-Lys-Pro-

【発明の詳細な説明】

10 【0001】

【産業上の利用分野】本発明はヒトインターロイキン6の活性発現を阻害するインターロイキン6拮抗剤、及び新規なペプチド類または医薬として許容されるその塩類に関するものである。本発明に用いられるペプチド類または医薬として許容されるその塩類は、ヒトインターロイキン6に対して拮抗的に作用し、その活性発現を阻害するものであり、ヒトインターロイキン6に由来する種々の疾患(例えば自己免疫疾患等)等の治療に有用である。

20 【0002】

【従来の技術】B細胞の抗体産生を誘導するB細胞分化因子(BCDF/BSF<sub>2</sub>)に関するcDNAのクローニングやアミノ酸配列の決定等がなされたことにより、該B細胞分化因子は、これまで互いに異なる物質として独立して研究されてきたインターフェロンβ<sub>2</sub>(IFNβ<sub>2</sub>)、ハイブリドーマ/プラズマサイトーマ増殖因子(HPGF)、肝細胞刺激因子(HSF)等と同一物質であることが判明し、これらの物質を総称してインターロイキン6(以下、IL-6と略記する)と呼ぶようになった。

30

【0003】このIL-6は、上述した様にB細胞分化因子として抗体産生を増強させたり、また肝細胞刺激因子として急性期タンパク質の合成を誘導する等、炎症や感染に対する生体防御機構において極めて重要な機能を担う重要なタンパク質であるが、その一方では、該IL-6の過剰産生が原因と考えられる疾患も問題になっている。例えば、Medical Immunology、第15巻、195~201頁(1988年)には、IL-6と自己免疫疾患との関係が報告されている。また、現代化学増刊18「サイトカイン」免疫応答及び細胞の増殖・分化因子、大沢利昭編、71~85頁(1990年、出版:東京化学同人)にはIL-6が原因物質となって関与する疾患として、慢性関節リウマチ、心房内粘液腫、キャスルマン病、ミエローマ、レンネルTリンパ腫、メサングウム増殖性腎炎等の種々の自己免疫疾患が挙げられる。

【0004】この様にIL-6は種々の自己免疫疾患の原因物質と考えられるので、これらの疾患を治療することを目的として、IL-6分子の活性発現部位に関する研究、及びこの活性発現部位に対して拮抗的に作用し、

50 IL-6の働きを阻害する物質の開発が進められてい

る。

【0005】IL-6分子の活性発現部位に関する研究報告によれば、例えばJust P. J. Brakenhoff等は、従来シグナルペプチドと考えられていたIL-6分子のN末端の28個のアミノ酸残基はIL-6の活性発現には不要であると報告している(The Journal of Immunology, 143巻、1175~82頁、1989年)。また、A. Kruttgen等は、IL-6のC末端から3番目のアミノ酸が活性発現に必須であると報告している(FEBS Letters, 273巻、95~98頁、1990年)。更に、C. Nishimura等は、IL-6分子をNMRで解析し、IL-6がその受容体と結合する際には、C末端に近い部分が重要な働きをすると予測している(FEBS Letters, 281巻、167~169頁、1991年)。しかしながら、いずれの報告においてもIL-6の活性発現部位は特定できておらず、その活性発現に対して拮抗作用を有する物質は未だ発見されていない。

【0006】また、IL-6の活性発現部位に対して拮抗的に作用し、IL-6の働きを阻害すると考えられる物質として、例えばBSF<sub>2</sub>の一部を構成するポリペプチド、すなわちBSF<sub>2</sub>のN末端及びC末端から複数個のアミノ酸が欠損したポリペプチドが開示されている(特開平2-188600号)。

【0007】しかし、上記公開公報で開示されている物質は全アミノ酸数が20個以上からなるペプチドであり、このような長鎖のペプチドを製造するには複数の化学合成法を駆使する必要がある、操作が煩雑で且つ技術的にも困難な問題を伴うことが多く、実用性に欠けるものである。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、上記のような問題に鑑みてなされたものであり、その第1の目的は、IL-6に対して拮抗的に作用し、その活性発現を阻害することのできるIL-6拮抗剤を提供することにある、その第2の目的は、アミノ酸数が比較的少ないペプチドであっても同様の作用効果を有するインターロイキン6拮抗剤を提供することにある。更に、本発明の第3の目的は、新規なペプチド類を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明のIL-6拮抗剤は、一般式(I): X-W-Y

(式中、Xは水素またはアミノ保護基、Yは水酸基またはカルボキシ保護基、Wは以下のA~Dのいずれかで示されるアミノ酸配列の全部、またはその一部を連続して含むペプチドのN末端から水素原子を1個除き、且つ該ペプチドのC末端から水酸基を1個除いた2価の基を表す。但し、Wにおいて該アミノ酸配列中の遊離のメルカプト基は、メルカプト保護基で保護されていてもよい。)で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類、及び医薬として許容される担体を含む

ことに要旨を有するものである。

A: -Thr-Ser-Ser-Glu-Arg-Ile-Asp-Lys-Gln-Ile-Arg-Tyr-Ile-Leu-Asp-Gly-Ile-Ser-Ala-Leu-Arg-Lys-Glu-Thr-Cys-Asn-Lys-Ser-Asn-Met-Cys-Glu-Ser-Ser-Lys-Glu-Ala-Leu-Ala-Glu-Asn-Asn-Leu-Asn-Leu-Pro-Lys-Met-Ala-Glu-Lys-

B: -Lys-Val-Leu-Ile-Gln-Phe-Leu-Gln-Lys-Lys-Ala-Lys-Asn-Leu-Asp-Ala-Ile-Thr-Thr-Pro-Asp-Pro-Thr-Thr-Asn-Ala-Ser-Leu-Leu-Thr-Lys-Leu-Gln-Ala-Gln-Asn-Gln-Trp-Leu-Gln-Asp-Met-Thr-Thr-His-Leu-Ile-Leu-Arg-Ser-Phe-Lys-Glu-Phe-Leu-Gln-Ser-Ser-Leu-Arg-Ala-Leu-Arg-Gln-Met-

C: -Ser-Cys-Phe-Arg-Lys-Ser-Pro-Leu-Ser-Asn-Val-Val-Cys-Glu-Trp-Gly-Pro-Arg-Ser-Thr-Pro-Ser-Leu-Thr-Thr-Lys-Ala-Val-Leu-Leu-Val-Arg-Lys-Phe-Gln-Asn-Ser-Pro-Ala-Glu-Asp-Phe-Gln-Glu-Pro-Cys-Gln-Tyr-Ser-Gln-Glu-Ser-Gln-Lys-Phe-Ser-Cys-Gln-Leu-Ala-Val-Pro-Glu-Gly-Asp-Ser-Ser-Phe-Tyr-Ile-Val-Ser-Met-Cys-Val-Ala-Ser-Ser-Val-Gly-Ser-Lys-Phe-Ser-Lys-Thr-Gln-Thr-Phe-Gln-Gly-Cys-Gly-Ile-Leu-Gln-Pro-Asp-Pro-Pro-Ala-Asn-Ile-Thr-Val-Thr-Ala-Val-Ala-Arg-Asn-Pro-Arg-Trp-Leu-Ser-Val-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-His-Ser-Trp-Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-Arg-Leu-Arg-Phe-Glu-Leu-Arg-Tyr-Arg-Ala-Glu-Arg-Ser-Lys-Thr-Phe-Thr-Thr-Trp-Met-Val-Lys-Asp-Leu-Gln-His-His-Cys-Val-Ile-His-Asp-Ala-Trp-Ser-Gly-Leu-Arg-His-Val-Val-Gln-Leu-Arg-Ala-Gln-Glu-Glu-Phe-Gly-Gln-Gly-

D: -Gly-Leu-Pro-Pro-Glu-Lys-Pro-Lys-Asn-Leu-Ser-Cys-Ile-Val-Asn-Glu-Gly-Lys-Lys-Met-Arg-Cys-Glu-Trp-Asp-Gly-Gly-Arg-Glu-Thr-His-Leu-Glu-Thr-Asn-Phe-Thr-Leu-Lys-Ser-Glu-Trp-Ala-Thr-His-Lys-Phe-Ala-Asp-Cys-Lys-Ala-Lys-Arg-Asp-Thr-Pro-Thr-Ser-Cys-Thr-Val-Asp-Tyr-Ser-Thr-Val-Tyr-Phe-Val-Asn-Ile-Glu-Val-Trp-Val-Glu-Ala-Glu-Val-Ala-Leu-Gly-Lys-Val-Thr-Ser-Asp-His-Ile-Asn-Phe-Asp-Pro-Val-Tyr-Lys-Val-Lys-Pro-Asn-Pro-Pro-His-Asn-Leu-Ser-Val-Ile-Asn-Ser-Glu-Glu-Leu-Ser-Ser-Ile-Leu-Lys-Leu-Thr-Trp-Thr-Asn-Pro-Ser-Ile-Lys-Ser-Val-Ile-Ile-Leu-Lys-Tyr-Asn-Ile-Gln-Tyr-Arg-Thr-Lys-Asp-Ala-Ser-Thr-Trp-Ser-Gln-Ile-Pro-Pro-Glu-Asp-Thr-Ala-Ser-Thr-Arg-Ser-Ser-Phe-Thr-Val-Gln-Asp-Leu-Lys-Pro-Phe-Thr-Glu-Tyr-Val-Phe-Arg-Ile-Arg-Cys-Met-

【0010】WがAの一部を連続して含む2価の基である場合における好適な実施態様としては、下記式(1)~式(7)のいずれかで示されるものが挙げられる。

式(1): -Lys-Gln-Ile-Arg-Tyr-

式(2): -Tyr-Ile-Leu-Asp-Gly-

式(3): -Glu-Ser-Ser-Lys-Glu-

式(4): -Ser-Lys-Glu-Ala-Leu-

式(5): -Lys-Glu-Ala-Leu-Ala-

式(6) : -Glu-Ala-Leu-Ala-Glu-

式(7) : -Leu-Ala-Glu-Asn-Asn-

WがBの一部を連続して含む2価の基である場合における好適な実施態様としては、下記式(8)～式(23)のいずれかで示されるものが挙げられる。

式(8) : -Gln-Lys-Lys-Ala-Lys-

式(9) : -Lys-Lys-Ala-Lys-Asn-

式(10) : -Ala-Lys-Asn-Leu-Asp-

式(11) : -Lys-Asn-Leu-Asp-Ala-

式(12) : -Ile-Thr-Thr-Pro-Asp-

式(13) : -Asp-Pro-Thr-Thr-Asn-

式(14) : -Ala-Ser-Leu-Leu-Thr-

式(15) : -Leu-Thr-Lys-Leu-Gln-

式(16) : -Lys-Leu-Gln-Ala-Gln-

式(17) : -Gln-Trp-Leu-Gln-Asp-

式(18) : -His-Leu-Ile-Leu-Arg-

式(19) : -Leu-Arg-Ser-Phe-Lys-

式(20) : -Arg-Ser-Phe-Lys-Glu-

式(21) : -Ser-Ser-Leu-Arg-Ala-

式(22) : -Leu-Arg-Ala-Leu-Arg-

式(23) : -Lys-Glu-Phe-Leu-Gln-Ser-Ser-Leu-Arg-

【0011】WがCの一部を連続して含む2価の基である場合における好適な実施態様としては、下記式(24)～式(31)のいずれかで示されるペプチドが挙げられる。

式(24) : -Glu-Glu-Phe-Gly-Gln-Gly-

式(25) : -Ser-Ser-Phe-Tyr-

式(26) : -Cys(Acm)-Phe-Arg-Lys-Ser-Pro-Leu-Ser-Asn-Val-Val-Cys(Acm)-

(式中、AcmはCys中のメルカプト基を保護するアセトアミドメチル基を示す。)

式(27) : -Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-

式(28) : -Ala-Val-Pro-Glu-Gly-

式(29) : -Glu-Gly-Asp-Ser-Ser-

式(30) : -Ile-Leu-Gln-Pro-Asp-

式(31) : -Ala-Arg-Asn-Pro-Arg-

WがDの一部を連続して含む2価の基である場合における好適な実施態様としては、下記式(32)～式(38)のいずれかで示されるものが挙げられる。

式(32) : -Glu-Trp-Ala-Thr-His-Lys

式(33) : -Asn-Glu-Gly-Lys-Lys-

式(34) : -Glu-Glu-Leu-Ser-Ser-

式(35) : -Ile-Ile-Leu-Lys-Tyr-

式(36) : -Ile-Leu-Lys-Tyr-Asn-

式(37) : -Thr-Val-Gln-Asp-Leu-

式(38) : -Gln-Asp-Leu-Lys-Pro-

【0012】また、本発明のペプチド類または医薬として許容されるその塩類は、

一般式(I) : X-W-Y

(式中、Xは水素またはアミノ保護基、Yは水酸基また

はカルボキシ保護基、Wは上記式(1)～(38)のいずれかで示されるアミノ酸配列を含むペプチドのN末端から水素原子を1個除き、且つ該ペプチドのC末端から水酸基を1個除いた2価の基を表す。但し、Wにおいて該アミノ酸配列中の遊離のメルカプト基は、メルカプト保護基で保護されていてもよい。)で示されることに要旨を有するものである。

【0013】

【作用】本発明のIL-6拮抗剤は、上記一般式(I)

10 10 示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類、及び医薬として許容される担体を含有するものである。なお、本明細書においてアミノ酸残基、保護基、溶媒等を略号で表示する場合には、IUPAC及びICBの規定、もしくは当該分野における慣用の記号に従うものとする。以下にそれらの例を挙げる。

【0014】アミノ酸残基：

Ala : L-アラニン残基

Arg : L-アルギニン残基

Asn : L-アスパラギン残基

20 Asp : L-アスパラギン酸残基

Cys : L-システイン残基

Gln : L-グルタミン残基

Glu : L-グルタミン酸残基

Gly : グリシン残基

His : L-ヒスチジン残基

Ile : L-イソロイシン残基

Leu : L-ロイシン残基

Lys : L-リジン残基

Met : L-メチオニン残基

30 Phe : L-フェニルアラニン残基

Pro : L-プロリン残基

Ser : L-セリン残基

Thr : L-トレオニン残基

Trp : L-トリプトファン残基

Tyr : L-チロシン残基

Val : L-バリン残基

【0015】アミノ保護基：

Boc : t-ブトキシカルボニル

Cl-Z : 2-クロロベンジルオキシカルボニル

40 Br-Z : 2-ブロモベンジルオキシカルボニル

Bzl : ベンジル

Fmoc : 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル

Mbh : 4'-ジメトキシベンズヒドリル

Mtr : 4-メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルホニル

Pmc : 2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル

Trt : トリチル

Tos : トシル

50 Z : ベンジルオキシカルボニル

## 【0016】メルカプト保護基：

tBu：第三級ブチル

Acm：アセトアミドメチル

## 溶媒：

DCM：塩化メチレン

DMF：N，N-ジメチルホルムアミド

NMP：N-メチルピロリドン

## その他：

DCC：ジクロロヘキシルカルボジイミド

DIEA：N，N-ジイソプロピル-N-エチルアミン 10

HOBt：N-ヒドロキシベンゾトリアゾール

TBTU：2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート

TFA：トリフルオロ酢酸

【0017】また本明細書では、慣用の記載方法に従って、ペプチド中のアミノ酸配列を、そのN末端のアミノ酸残基が左側に位置し、C末端のアミノ酸残基が右側に位置するように記述する。

【0018】上記一般式(I)において、Xは水素またはアミノ保護基を意味する。上記アミノ保護基としては例えば、Boc基、トリクロロエトキシカルボニル基、t-アミルオキシカルボニル基等の置換基を有してもよいアルコキシカルボニル基；シクロペンチルオキシカルボニル基、シクロヘキシルオキシカルボニル基等の置換基を有してもよいシクロアルコキシカルボニル基；Z基、p-メトキシベンジルオキシカルボニル基、C1-Z基、p-クロロベンジルオキシカルボニル基、Br-Z基、p-ブromoベンジルオキシカルボニル基、p-ニトロベンジルオキシカルボニル基、アダマンチルオキシカルボニル基、Fmoc基等の置換基を有してもよいアラキルオキシカルボニル基；アセチル基、トリフルオロアセチル基、ホルミル基、プロピオニル基、フェニル

アセチル基、フェニルプロピオニル基、ベンゼンスルホニル基、Tos基等の置換基を有してもよいアシル基等が挙げられる。

【0019】また、上記一般式(I)において、Yは水酸基またはカルボキシ保護基を意味する。上記カルボキシ保護基としては例えば、アミノ基；メチルアミノ基またはエチルアミノ基等の、モノまたはジ(低級)アルキルアミノ基；メトキシ基、エトキシ基等の低級アルコキシ基；フェニルオキシ基、ナフチルオキシ基等のアリーロキシ基；ベンジルオキシ基等のアリール(低級)アルコキシ基；複素環(低級)アルコキシ基等が挙げられる。

【0020】また、上記A、C及びD中に含まれるシステイン中のメルカプト保護基としては、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、トリチル基等の置換基を有してもよいアラキル基；アセトアミドメチル基、トリメチルアセトアミドメチル基などのアミドメチル基；3-ニトロ-2-ピリジンスルフェニル基、t-Bu基等が挙げられる。また、Wの定義において用いられる「その一部」とは、上記A～Dのいずれかで示されるアミノ酸配列の少なくとも3個以上を連続して含むものであることが好ましい。

【0021】上記一般式(I)で示されるペプチド類のうち、Wが上記式(1)～(38)のいずれかで示される2価の基(但し、Wにおいて該アミノ酸配列中の遊離のメルカプト基は、メルカト保護基で保護されていてもよい。)で示されるペプチド類または医薬として許容されるその塩類は、本発明によって初めて開示された新規なものである。本発明に用いられるペプチド類の最も好ましい例を表1及び表2に示す。

## 【0022】

## 【表1】



化合物	X	A	Y	組 成
(1)	Z	式(1)	OH	Z-Lys-Gln-Ile-Arg-Tyr-OH
(2)	Z	式(2)	OH	Z-Tyr-Ile-Leu-Asp-Gly-OH
(3)	Z	式(3)	OH	Z-Glu-Ser-Ser-Lys-Glu-OH
(4)	Z	式(4)	OH	Z-Ser-Lys-Glu-Ala-Leu-OH
(5)	Z	式(5)	OH	Z-Lys-Glu-Ala-Leu-Ala-OH
(6)	Z	式(6)	OH	Z-Glu-Ala-Leu-Ala-Glu-OH
(7)	Z	式(7)	OH	Z-Leu-Ala-Glu-Asn-Asn-OH
(8)	Z	式(8)	NH <sub>2</sub>	Z-Gln-Lys-Lys-Ala-Lys-NH <sub>2</sub>
(9)	Z	式(9)	OH	Z-Lys-Lys-Ala-Lys-Asn-OH
(10)	H	式(10)	NH <sub>2</sub>	H-Ala-Lys-Asn-Leu-Asp-NH <sub>2</sub>
(11)	フェニル プロピ ニル	式(11)	OH	フェニルプロピニル-Lys-Asn-Leu-Asp-Ala-OH
(12)	Z	式(12)	OH	Z-Ile-Thr-Thr-Pro-Asp-OH
(13)	Z	式(13)	OH	Z-Asp-Pro-Thr-Thr-Asn-OH
(14)	Z	式(14)	OH	Z-Ala-Ser-Leu-Leu-Thr-OH
(15)	Z	式(15)	OH	Z-Leu-Thr-Lys-Leu-Gln-OH
(16)	Z	式(16)	OH	Z-Lys-Leu-Gln-Ala-Gln-OH
(17)	Z	式(17)	OH	Z-Gln-Trp-Leu-Gln-Asp-OH
(18)	H	式(18)	NH <sub>2</sub>	H-His-Leu-Ile-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(19)	H	式(18)	OH	H-His-Leu-Ile-Leu-Arg-OH
(20)	H	式(18)	NH <sub>2</sub>	H-Leu-Ile-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(21)	H	式(18)	NH <sub>2</sub>	H-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(22)	Z	式(19)	OH	Z-Leu-Arg-Ser-Phe-Lys-OH

【0023】

【表2】

化合物	X	A	Y	組 成
(23)	フェニル プロピ ニル	式(20)	OH	フェニルプロピニル-Arg-Ser-Phe-Lys-Glu-OH
(24)	Z	式(21)	OH	Z-Ser-Ser-Leu-Arg-Ala-OH
(25)	H	式(22)	NH <sub>2</sub>	H-Leu-Arg-Ala-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(26)	H	式(22)	NH <sub>2</sub>	H-Arg-Ala-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(27)	H	式(23)	NH <sub>2</sub>	H-Lys-Glu-Phe-Leu-Gln-Ser-Ser-Leu-Arg-NH <sub>2</sub>
(28)	Z	式(24)	OH	Z-Glu-Glu-Phe-Gly-Gln-Gly-OH
(29)	H	式(25)	NH <sub>2</sub>	H-Ser-Ser-Phe-Tyr-NH <sub>2</sub>
(30)	H	式(26)	OH	H-Cys(Acm)-Phe-Arg-Lys-Ser-Pro-Leu-Ser-Asn-Val-Val-Cys(Acm)-OH (式中、Acm はアトアミド基を示す)
(31)	H	式(27)	OH	H-Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-OH
(32)	Z	式(28)	OH	Z-Ala-Val-Pro-Glu-Gly-OH
(33)	Z	式(29)	NH <sub>2</sub>	Z-Glu-Gly-Asp-Ser-Ser-NH <sub>2</sub>
(34)	Z	式(30)	OH	Z-Ile-Leu-Gln-Pro-Asp-OH
(35)	H	式(31)	NH <sub>2</sub>	H-Ala-Arg-Asn-Pro-Arg-NH <sub>2</sub>
(36)	H	式(32)	NH <sub>2</sub>	H-Glu-Trp-Ala-Thr-His-Lys-NH <sub>2</sub>
(37)	H	式(33)	NH <sub>2</sub>	H-Asn-Glu-Gly-Lys-Lys-NH <sub>2</sub>
(38)	Z	式(34)	OH	Z-Glu-Glu-Leu-Ser-Ser-OH
(39)	H	式(35)	NH <sub>2</sub>	H-Ile-Ile-Leu-Lys-Tyr-NH <sub>2</sub>
(40)	H	式(36)	OH	H-Ile-Leu-Lys-Tyr-Asn-OH
(41)	Z	式(37)	OH	Z-Thr-Val-Gln-Asp-Leu-OH
(42)	Z	式(38)	OH	Z-Gln-Asp-Leu-Lys-Pro-OH

【0024】なお、各ペプチド中のアミノ酸残基は、酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸等、アミノ酸の性状もしくは機能が同じアミノ酸（相同的なアミノ酸）に置換され得る。

【0025】上記本発明において用いられるペプチド類を合成するに当たっては、ペプチド合成において通常用いられる方法、例えば固相合成法または液相合成法を用いて調製することができる。具体的には例えば、「続医

薬品の開発 第14巻ペプチド合成」監修 矢島治明（廣川書店発行、1991年）に記載の方法に準じて行えばよいが、液相合成法よりも固相合成法の方が操作性という点で有利である。固相合成法としては例えば、有機溶媒に不溶性である支持体に、合成しようとするペプチドのC末端に対応するアミノ酸を結合させ、 $\alpha$ -カルボキシル基以外の $\alpha$ -アミノ基等の官能基をt-ブトキシカルボニル基等の保護基で保護した後、これら保護

された対応するアミノ酸をN末端方向に順次縮合反応により結合させ、該保護基を脱離させる反応を交互に繰り返すことによりペプチド鎖を延長させる方法が用いられる。固相ペプチド合成法は、用いられる保護基の種類によりt-Boc法とFmoc法とに大別される。

【0026】この様にして目的するペプチドを合成した後、脱保護基反応およびペプチド鎖の支持体からの切断を行う。脱保護基反応には、t-Boc法ではトリフルオロメタンスルホン酸（以下TFMSAと言う）を、またFmoc法ではTFAを用いるのが適当である。例えばt-Boc法では、フッ化水素中で上記ペプチドをアニソール存在下にて処理し、保護基の脱離と支持体からの切断を行ってペプチドを回収する。これを凍結乾燥させることにより、粗ペプチドが得られる。一方、Fmoc法ではTFA中において上記と同様の操作で脱保護基反応およびペプチド鎖の支持体からの切断反応を行うことが可能である。

【0027】この様にして得られた粗ペプチドを高速液体クロマトグラフィー（以下HPLCと略記する）に供することにより分離・精製を行う。その溶出に当たっては、タンパク質の精製に通常用いられる水-アセトニトリル系溶媒を用いて最適条件下で行うのがよい。得られたクロマトピークに相当する画分を分取し、これを凍結乾燥する。この様にして精製した精製ペプチド画分について、マススペクトル分析による分子量解析、アミノ酸組成分析、あるいはアミノ酸配列解析等により同定を行う。

【0028】本発明において用いられる、医薬として許容される上記ペプチド類の塩類とは生理学的に許容される塩類であり、その様な例としては例えば、塩酸、硫酸、燐酸、ギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、乳酸、酒石酸、マレイン酸、フマル酸、シュウ酸、リンゴ酸、クエン酸、オレイン酸、パルミチン酸等の無機酸または有機酸との塩；ナトリウム、カリウム、カルシウムなどのアルカリ金属またはアルカリ土類金属との塩；トリエチルアミン、ジエタノールアミン、t-ブチルアミン、ベンジルアミン、ジシクロヘキシルアミン、アルギニン等の有機塩基との塩等が挙げられる。これらペプチド類の塩類は、通常の塩生成反応を用いて調製することができる。

【0029】本発明に用いられる上記ペプチド類及び医薬として許容されるその塩類（以下、これらを単にペプチド類で代表する場合がある）は、ヒトIL-6の受容体もしくはその情報伝達タンパク質であるgp130に拮抗的に作用する結果、種々の活性発現を阻害することができると考えられる。従って、本発明のペプチド類はIL-6過剰産生が原因と考えられる自己免疫疾患等の種々の疾患として有用である。この様な自己免疫疾患としては、膠原病としてSLE（全身性エリテマトーデス）、慢性関節リウマチ、強皮症（進行性全身性硬化

症）、結節性多発性動脈炎、ベーチェット病（腸型、血管型、神経型、口腔、皮膚、目、外陰部、関節、副睾丸、肺、腎）、乾癬、ウェゲナー肉芽腫、大動脈炎症候群、シェーグレン症候群、自己免疫性甲状腺炎など、腎疾患としてI型糖尿病（膵島炎）、ネフローゼ症候群、糸球体腎炎（糸球体硬化症）、間質性腎炎、グッドパスチャー症候群、糖尿病性腎症、溶血性尿毒症、虚血性急性腎不全、慢性腎不全、糸球体内血栓抑制などが挙げられる。また、原発性粘膜水腫、バセドウ病、悪性貧血、自己免疫性萎縮性胃炎、早発閉経、男性不妊症、重症筋無力症、若年型糖尿病、尋常性天疱瘡、類天疱瘡、交感性眼炎、水晶性ぶどう膜炎、多発性硬化症、溶血性貧血、持発性血小板減少性紫斑症、持発性白血球減少症、原発性胆汁性肝硬変、活動性慢性肝炎、持発性肝硬変、潰瘍性大腸炎、円板状紅斑性狼瘡、皮膚筋炎、橋本甲状腺炎、アジソン病、クローン病なども挙げられる。

【0030】本発明において用いられる上記ペプチド類は、カプセル剤、マイクロカプセル剤、錠剤、顆粒剤、粉末、トローチ剤、丸剤、軟膏、坐剤、注射剤、懸濁剤、シロップ剤、乳剤、液剤、腸溶コーティング剤、噴霧剤、吸入剤、点眼剤、点鼻剤等の慣用の医薬製剤の形で投与することができる。投与経路としては経口、皮下、筋肉内、静脈内、臍内、直腸内、口腔内（頬側及び舌下を含む）、経皮、鼻粘膜等を含む様々な経路によって投与することができる。

【0031】上記ペプチド類の製剤化に当たっては、医薬として許容される担体を用いて常法によって製造することができる。この様な担体としては、例えばスクロース、デンプン、マンニット、ソルビット、ラクトース、グルコース、セルロース、タルク、リン酸カルシウム、炭酸カルシウム等の賦形剤；例えばセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ポリプロピルピロリドン、ゼラチン、アラビアゴム、ポリエチレングリコール、スクロース、デンプン等の結合剤；例えばデンプン、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルデンプン、炭酸水素ナトリウム、リン酸カルシウム、クエン酸カルシウム等の崩壊剤；例えばステアリン酸マグネシウム、エアロシル、タルク、ラウリル硫酸ナトリウム等の滑沢剤；例えばクエン酸、メントール、グリシン、オレンジ末等の矯味剤；例えば安息香酸ナトリウム、重亜硫酸ナトリウム、メチルパラベン、プロピルパラベン等の保存剤；例えばクエン酸、クエン酸ナトリウム、酢酸等の安定化剤；例えばメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ステアリン酸アルミニウム等の懸濁化剤；例えばヒドロキシプロピルメチルセルロース等の分散剤；例えば水等の希釈剤；例えばカカオバター、白色ワセリン、ポリエチレングリコール等の基材ワックスのような、製剤化に慣用の有機または無機の各種担体が挙げられる。

【0032】上記本発明の薬剤の投与量は、症状の程

度、患者の全身状態、年齢、体重等に応じて十分な治療（または予防）効果を発揮し得る量であり、投与経路や剤型等を考慮して適宜決定されるものであるが、有効成分であるペプチドの量として、経口投与の場合は、通常成人において一日当たり $0.01\mu\text{g}\sim 2\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ であり、好ましくは $0.1\mu\text{g}\sim 200\text{mg}/\text{kg}$ である。また、通常成人において一回当たり $0.01\mu\text{g}\sim 200\text{mg}/\text{kg}$ であり、好ましくは $0.1\mu\text{g}\sim 100\text{mg}/\text{kg}$ である。また、非経口投与の場合は、通常成人において一日当たり $0.001\mu\text{g}\sim 1\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ であり、好ましくは $0.01\mu\text{g}\sim 200\text{mg}/\text{kg}$ である。また、通常成人において一回当たり $0.001\mu\text{g}\sim 500\text{mg}/\text{kg}$ であり、好ましくは $0.01\mu\text{g}\sim 100\text{mg}/\text{kg}$ である。

【0033】以下実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、下記実施例は本発明を制限するものではなく、前・後記の趣旨を逸脱しない範囲で変更実施することは全て本発明の技術的範囲に包含される。

#### 【0034】

##### 【実施例】

##### 実施例1

##### 化合物(1) = Z-Lys-Gln-Ile-Arg-Tyr-OHの合成

化合物(1)の合成は、簡易型ペプチド合成装置（国産化学（株）製、商標「コックさん」）を用い、一般にFmoc法と呼ばれる固相合成法で行った。本実施例に用いる樹脂としては、オキシメチルフェノキシメチル樹脂に、合成するペプチドのC末端に対応する保護されたアミノ酸残基であるFmoc-Tyr(tBu)残基が結合した樹脂（すなわち、Fmoc-Tyr(tBu)-O-Polymer）0.5g（該樹脂中に0.33mmol相当のTyrが含まれている）を用い、以下に示す手順に従って、目的とするペプチドのC末端からN末端方向へ順次、対応する保護アミノ酸を結合させた。

【0035】1) DMF 6mlで上記樹脂を1分間攪拌する。これを3回繰り返す。

2) 更に、20%(W/W) ピペリジンのDMF溶液6mlで3分間攪拌する。これを3回繰り返す。

3) 更に、20%(W/W) ピペリジンのDMF溶液6mlで15分間攪拌する。

4) 更に、DCM 6mlで1分間攪拌する。これを2回繰り返す。

5) 更に、DMF 6mlで1分間攪拌する。これを2回繰り返す。

6) 更に、メタノール6mlで1分間攪拌する。

7) 更に、DCM 6mlで1分間攪拌する。これを2回繰り返す。

8) 更に、NMP 6mlで1分間攪拌する。これを3回繰り返す。

9) 次に、Fmoc-Arg(Pmc)-OH $\cdot$ 1/2AcOEt (1.2mmol, 848mg)の組成からなる保護アミノ酸のNMP (2.6ml) 溶液

に、HOBt (1.2mmol) 及びTBTU (1.2mmol) のDMF溶液(2.4ml)、並びにDIEA (2.4mmol) のNMP溶液(1.0ml)を加え、室温で7分間攪拌する。なお、以下に用いるアミノ酸はすべて、上記樹脂に対して、該樹脂に結合しているTyr (0.33mmol) の4倍量（約1.2mmol）が加えられる。

10) 上記9)で得られた溶液を、上記1)～8)の工程を経た樹脂に添加した後、30分間攪拌する。

11) 上記樹脂をメタノール6mlで1分間攪拌し、洗浄する。

12) 更に上記樹脂をNMP 6mlで1分間攪拌し、洗浄する。これを3回繰り返す。

13) 更に上記樹脂をDCM 6mlで1分間攪拌、洗浄する。これを5回繰り返す。この様にして、樹脂にFmoc-Arg(Pmc)を結合させる。

14) 上記9)においてFmoc-Arg(Pmc)-OH $\cdot$ 1/2AcOEt (1.2mmol, 848mg)の代わりにFmoc-Ile-OH (1.2mmol, 424mg)を用いたこと以外は9)と同様にして溶液を調製し、引き続き10)～13)の工程を行うことにより、樹脂に上記組成の保護アミノ酸を結合させる。

15) 上記9)においてFmoc-Arg(Pmc)-OH $\cdot$ 1/2AcOEt (1.2mmol, 848mg)の代わりにFmoc-Gln-OH (1.2mmol, 442mg)を用いたこと以外は9)と同様にして溶液を調製し、引き続き10)～13)の工程を行うことにより、樹脂に上記組成の保護アミノ酸を結合させる。

16) 上記9)においてFmoc-Arg(Pmc)-OH $\cdot$ 1/2AcOEt (1.2mmol, 848mg)の代わりにZ-Lys(Boc)-OH (1.2mmol, 457mg)を用いたこと以外は9)と同様にして溶液を調製し、引き続き10)～13)の工程を行うことにより、樹脂に上記組成の保護アミノ酸を結合させる。

【0036】この様にして全ての保護アミノ酸を樹脂に結合させた後、真空乾燥することにより、624mgの保護ペプチド樹脂を得た。このうち、280mgの保護ペプチド樹脂を5%フェノールを含むTFA溶液(15ml)で処理し、目的ペプチドを樹脂から切り出すと同時に不要な側鎖保護基の除去を行った。反応液中の不溶物をガラスフィルターで除去し、濾液にジエチルエーテルを加え、得られた沈澱物をガラスフィルターで回収し、真空乾燥することにより、化合物(1)を含む粗生成物50mgを得た。

【0037】得られた粗生成物のうち30mgを、分取用高速液体クロマトグラフィー（カラム：東ソー社製「TSK Gel ODS 120-T」、2.54cm $\phi$ ×30cmL）を用いてアセトニトリルと0.1%(W/W) TFA水溶液の混合溶液による直線グラディエント法で溶出させ、化合物(1)を含む画分を分離・精製することにより、化合物(1)の精製物12mgを得た。得られた精製物を50%(W/W)の酢酸溶液に溶解し、陽イオン交換樹脂Amberlite IRA-410（オルガノ株式会社製）に通すことにより、化合物(1)の酢酸塩10mgを得た。

【0038】この様にして合成した化合物(1)について、HPLCによる純度検定とアミノ酸分析による確認を行った。以下に、HPLCによる分析条件及びアミノ酸分析法を示すと共に、その分析結果を表3～表6に示す。なお、これらの表には、後記する実施例2～7で得られた化合物(2)～(42)の分析結果も併記している。

【0039】HPLCによる分析：

カラム：TSKgel ODS-120T (0.46cmφ x 25cm L)

(東ソー社製)

溶出液：アセトニトリルと0.1%(W/W) TFA水溶液の混合溶液

検出：UV検出器、波長214nm

流速：1.0ml/min

なお表3及び表4において、比率Aは溶出開始時におけるアセトニトリルと0.1%(W/W) TFA水溶液の混合比率を示し、Bは溶出開始30分後の溶出液の混合比率を示す。なお、溶出液の混合比率は直線的に変化させた。

アミノ酸分析：

6N塩酸で上記化合物を酸分解した(110℃、24時間)後、各化合物のアミノ酸組成を日立アミノ酸分析装置(L-8500)で分析した。

【0040】

【表3】

	HPLCの 保持時間(分)	溶出液の比率*)	
		A	B
化合物(1)	18.3	20/80	40/60
化合物(2)	16.7	35/65	55/45
化合物(3)	16.1	15/85	35/65
化合物(4)	19.6	20/80	40/60
化合物(5)	19.9	20/80	40/60
化合物(6)	19.8	25/75	45/55
化合物(7)	16.1	25/75	45/55
化合物(8)	8.5	0/100	5/95
化合物(9)	16.2	25/75	45/55
化合物(10)	21.6	0/100	20/80
化合物(11)	16.7	20/80	40/60
化合物(12)	19.2	25/75	45/55
化合物(13)	20.9	15/85	35/65
化合物(14)	21.7	30/70	50/50
化合物(15)	16.1	30/70	50/50
化合物(16)	15.1	20/80	40/60
化合物(17)	15.4	30/70	50/50
化合物(18)	15.2	15/85	35/65
化合物(19)	16.6	15/85	35/65
化合物(20)	14.4	15/85	35/65
化合物(21)	15.6	0/100	20/80
化合物(22)	15.3	30/70	50/50

【0041】

【表4】

	HPLCの 保持時間(分)	溶出液の比率*)	
		A	B
化合物(23)	15.6	20/80	40/60
化合物(24)	19.3	20/80	40/60
化合物(25)	17.1	10/90	30/70
化合物(26)	15.4	5/95	25/75
化合物(27)	16.4	15/85	35/65
化合物(28)	19.4	23/77	43/57
化合物(29)	18.4	10/90	30/70
化合物(30)	17.1	18/82	38/62
化合物(31)	15.5	15/85	35/65
化合物(32)	15.4	25/75	45/55
化合物(33)	15.8	15/85	35/65
化合物(34)	16.0	34/66	54/46
化合物(35)	18.1	0/100	20/80
化合物(36)	16.2	8/92	28/72
化合物(37)	7.6	0/100	0/100
化合物(38)	17.4	23/77	43/57
化合物(39)	17.8	15/85	35/65
化合物(40)	17.6	10/90	30/70
化合物(41)	17.8	29/71	49/51
化合物(42)	16.6	24/76	44/56

【0042】

【表5】

化合物	アミノ酸の実測値 (理論値)
(1)	Glu 1.04(1), Ile 0.96(1), Tyr 1.01(1), Lys 1.02(1), Arg 0.97(1)
(2)	Asp 1.01(1), Gly 1.00(1), Ile 0.97(1), Leu 1.03(1), Tyr 0.99(1)
(3)	Ser 1.62(2), Glu 2.03(2), Lys 0.97(1)
(4)	Ser 0.81(1), Glu 1.00(1), Ala 0.98(1), Leu 1.01(1), Lys 1.00(1)
(5)	Glu 1.02(1), Ala 2.00(2), Leu 0.99(1), Lys 0.98(1)
(6)	Glu 1.98(2), Ala 2.02(2), Leu 1.00(1)
(7)	Asp 1.97(2), Glu 1.02(1), Ala 0.98(1), Leu 1.02(1)
(8)	Glu 0.98(1), Ala 1.02(1), Lys 3.00(3)
(9)	Asp 0.99(1), Ala 1.01(1), Lys 3.01(3)
(10)	Asp 1.99(2), Ala 1.00(1), Leu 1.03(1), Lys 0.98(1)
(11)	Asp 1.97(2), Ala 1.01(1), Leu 1.02(1), Lys 1.00(1)
(12)	Asp 0.90(1), Thr 1.62(2), Ile 0.94(1), Pro 1.16(1)
(13)	Asp 1.89(2), Thr 1.76(2), Pro 1.11(1)
(14)	Thr 0.93(1), Ser 0.86(1), Ala 0.99(1), Leu 2.01(2)
(15)	Thr 0.92(1), Glu 0.96(1), Leu 2.07(2), Lys 0.98(1)
(16)	Glu 1.96(2), Ala 0.99(1), Leu 1.07(1), Lys 0.98(1)
(17)	Asp 1.01(1), Glu 1.93(2), Leu 1.06(1)
(18)	Ile 1.00(1), Leu 2.06(2), His 0.95(1), Arg 0.99(1)
(19)	Ile 0.96(1), Leu 2.05(2), His 0.99(1), Arg 1.00(1)
(20)	Ile 0.96(1), Leu 2.05(2), Arg 0.99(1)
(21)	Leu 1.01(1), Arg 0.99(1)
(22)	Ser 0.80(1), Leu 1.03(1), Phe 1.04(1), Lys 0.99(1), Arg 0.98(1)
(23)	Ser 0.81(1), Glu 0.96(1), Phe 1.06(1), Lys 1.02(1), Arg 0.97(1)
(24)	Ser 1.62(2), Ala 1.01(1), Leu 1.03(1), Arg 0.96(1)

【0043】

【表6】

化合物	アミノ酸の実測値 (理論値)
(25)	Ala 1.00(1), Leu 2.03(2), Arg 1.96(2)
(26)	Ala 1.01(1), Leu 1.03(1), Arg 1.96(2)
(27)	Ser 1.76(2), Glu 2.00(2), Leu 2.00(2), Phe 1.00(1), Lys 0.96(1) Arg 1.03(1)
(28)	Glu 2.97(3), Gly 2.00(2), Phe 1.03(1)
(29)	Ser 1.75(2), Tyr 0.99(1), Phe 1.01(1)
(30)	Asp 1.04(1), Ser 1.87(2), Val 1.90(2), Leu 1.04(1), Phe 1.02(1) Lys 1.03(1), Arg 0.95(1), Pro 1.00(1)
(31)	Asp 0.92(1), Ser 1.71(2), Tyr 1.02(1), Phe 1.06(1)
(32)	Glu 0.96(1), Gly 0.96(1), Ala 0.98(1), Val 0.99(1), Pro 1.13(1)
(33)	Asp 0.98(1), Ser 1.62(2), Glu 1.00(1), Gly 1.03(1)
(34)	Asp 1.03(1), Glu 1.01(1), Ile 0.96(1), Leu 1.00(1), Pro 1.15(1)
(35)	Asp 0.99(1), Ala 0.97(1), Arg 2.01(2), Pro 1.02(1)
(36)	Thr 0.95(1), Glu 0.97(1), Ala 1.02(1), Lys 1.01(1), His 1.00(1)
(37)	Asp 0.99(1), Glu 1.06(1), Gly 0.98(1), Lys 1.97(2)
(38)	Ser 1.81(2), Glu 1.97(2), Leu 1.03(1)
(39)	Ile 1.85(2), Leu 1.20(1), Tyr 1.01(1), Lys 1.00(1)
(40)	Asp 0.99(1), Ile 0.94(1), Leu 0.99(1), Tyr 1.05(1), Lys 1.03(1)
(41)	Asp 1.00(1), Thr 0.96(1), Glu 0.99(1), Val 1.02(1), Leu 1.00(1)
(42)	Asp 1.00(1), Glu 0.99(1), Leu 1.03(1), Lys 0.98(1), Pro 1.14(1)

【0044】以下の実施例2～42で用いた樹脂、保護 40 まとめて示す。

アミノ酸の種類及び量 (樹脂への結合順に記載する)、

【0045】

並びに得られる化合物 (酢酸塩) の量を表7～表16に

【表7】

実施例	樹脂 (0.5g)	保護アミノ酸		得られる化合物の酢酸塩の量 (mg)
		種類	量 (mg)	
2	Fmoc-Gly-O-Polymer	Fmoc-Asp(O-tBu)	494	85
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ile	424	
		Z-Tyr(tBu)	446	
3	Fmoc-Glu(O-tBu)-O-Polymer	Fmoc-Lys(Boc)	562	115
		Fmoc-Ser(tBu)	460	
		Fmoc-Ser(tBu)	460	
		Z-Glu(O-tBu)	405	
4	Fmoc-Leu-O-Polymer	Fmoc-Ala	374	78
		Fmoc-Glu(O-tBu)	511	
		Fmoc-Lys(Boc)	562	
		Z-Ser(tBu)	354	
5	Fmoc-Ala-O-Polymer	Fmoc-Leu	424	95
		Fmoc-Ala	374	
		Fmoc-Glu(O-tBu)	511	
		Z-Lys(Boc)	456	
6	Fmoc-Glu(O-tBu)-O-Polymer	Fmoc-Ala	374	65
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ala	374	
		Z-Glu(O-tBu)	405	

【0046】

【表8】

実施例	樹脂 (0.5g)	保護アミノ酸		得られる化合物の酢酸塩の量 (mg)
		種類	量 (mg)	
7	Fmoc-Asn(Mbh)-O-Polymer	Fmoc-Asn(Mbh)	697	120
		Fmoc-Glu(O-tBu)	511	
		Fmoc-Ala	374	
		Z-Leu	318	
8	Fmocアミド樹脂	Fmoc-Lys(Boc)	562	75
		Fmoc-Ala	374	
		Fmoc-Lys(Boc)	562	
		Fmoc-Lys(Boc)	562	
		Z-Gln	336	
9	Fmoc-Asn(Mbh)-O-Polymer	Fmoc-Lys(Boc)	562	90
		Fmoc-Ala	374	
		Fmoc-Lys(Boc)	562	
		Z-Lys(Boc)	456	
10	Fmocアミド樹脂	Fmoc-Asp(O-tBu)	494	98
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Asn(Mbh)	697	
		Fmoc-Lys(Boc)	562	
		Fmoc-Ala	374	
11	Fmoc-Ala-O-Polymer	Fmoc-Asp(O-tBu)	494	110
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Asn(Mbh)	697	
		Fmoc-Lys(Boc)	562	
		フェニルプロピオン酸	180	

【0047】

【表9】

実施例	樹脂 (0.5g)	保護アミノ酸		得られる化合物の酢酸塩の量(mg)
		種類	量(mg)	
12	Fmoc-Asp (O-tBu)-O- Polymer	Fmoc-Pro	404	65
		Fmoc-Thr(tBu)	441	
		Fmoc-Thr(tBu)	441	
		Z-Ile	318	
13	Fmoc-Asn (Mbh)-O- Polymer	Fmoc-Thr(tBu)	441	90
		Fmoc-Thr(tBu)	441	
		Fmoc-Pro	404	
		Z-Asp	320	
14	Fmoc-Thr (tBu)-O- Polymer	Fmoc-Leu	424	85
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ser(tBu)	460	
		Z-Ala	268	
15	Fmoc-Gln (Mbh)-O- Polymer	Fmoc-Leu	424	105
		Fmoc-Lys(Boc)	562	
		Fmoc-Thr(tBu)	441	
		Z-Leu	318	
16	Fmoc-Gln (Mbh)-O- Polymer	Fmoc-Ala	374	120
		Fmoc-Gln(Mbh)	714	
		Fmoc-Leu	424	
		Z-Lys(Boc)	456	

【0048】

【表10】

実施例	樹脂 (0.5g)	保護アミノ酸		得られる化合物の酢酸塩の量(mg)
		種類	量(mg)	
17	Fmoc-Asp (O-tBu)-O- Polymer	Fmoc-Gln(Mbh)	714	70
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Trp	512	
		Z-Gln	336	
18	Fmocアミド 樹脂	Fmoc-Arg(Pmc)	796	55
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ile	424	
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-His(Trt)	744	
19	Fmoc-Arg (Mtr)-O- Polymer	Fmoc-Leu	424	82
		Fmoc-Ile	424	
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-His(Trt)	744	
20	Fmocアミド 樹脂	Fmoc-Arg(Pmc)	796	55
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ile	424	
		Fmoc-Leu	424	
21	Fmocアミド 樹脂	Fmoc-Arg(Pmc)	796	23
		Fmoc-Leu	424	
22	Fmoc-Lys (Boc)-O- Polymer	Fmoc-Phe	465	78
		Fmoc-Ser(tBu)	460	
		Fmoc-Arg(Pmc)	796	
		Z-Leu	318	

【0049】

【表11】

実施例	樹脂 (0.5g)	保護アミノ酸		得られる化合物の酢酸塩の量 (mg)
		種類	量 (mg)	
23	Fmoc-Glu (O-tBu)-O- Polymer	Fmoc-Lys (Boc)	562	120
		Fmoc-Phe	465	
		Fmoc-Ser (tBu)	460	
		Fmoc-Arg (Pmc)	796	
		フェニルプロピオン 酸	180	
24	Fmoc-Ala -O-Polymer	Fmoc-Arg (Pmc)	796	75
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ser (tBu)	460	
		Z-Ser (tBu)	354	
25	Fmocアミド 樹脂	Fmoc-Arg (Pmc)	796	103
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ala	374	
		Fmoc-Arg (Pmc)	796	
		Fmoc-Leu	424	
26	Fmocアミド 樹脂	Fmoc-Arg (Pmc)	796	55
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ala	374	
		Fmoc-Arg (Pmc)	796	

【0050】

【表12】

実施例	樹脂 (0.5g)	保護アミノ酸		得られる化合物の酢酸塩の量 (mg)
		種類	量 (mg)	
27	Fmocアミド 樹脂	Fmoc-Arg (Pmc)	796	175
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ser (tBu)	460	
		Fmoc-Ser (tBu)	460	
		Fmoc-Gln (Mbh)	714	
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Phe	465	
		Fmoc-Glu (O-tBu)	511	
		Fmoc-Lys (Boc)	562	
28	Fmoc-Gly -O-Polymer	Fmoc-Gln (Mbh)	714	68
		Fmoc-Gly	357	
		Fmoc-Phe	465	
		Fmoc-Glu (O-tBu)	511	
		Z-Glu (O-tBu)	405	
29	Fmocアミド 樹脂	Fmoc-Tyr (tBu)	552	48
		Fmoc-Phe	465	
		Fmoc-Ser (tBu)	460	
		Fmoc-Ser (tBu)	460	

【0051】

【表13】



実施例	樹脂 (0.5g)	保護アミノ酸		得られる化合物の酢酸塩の量 (mg)
		種類	量 (mg)	
30	Fmoc-Cys (Acm)-O- Polymer	Fmoc-Val	407	220
		Fmoc-Val	407	
		Fmoc-Asn (Mbh)	697	
		Fmoc-Ser (tBu)	460	
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Pro	405	
		Fmoc-Ser (tBu)	460	
		Fmoc-Lys (Boc)	562	
		Fmoc-Arg (Pmc)	796	
		Fmoc-Phe	465	
		Fmoc-Cys (Acm)	497	
31	Fmoc-Tyr (tBu)-O- Polymer	Fmoc-Phe	465	98
		Fmoc-Ser (tBu)	460	
		Fmoc-Ser (tBu)	460	
		Fmoc-Asn (Mbh)	697	
32	Fmoc-Gly -O-Polymer	Fmoc-Glu (O-tBu)	511	45
		Fmoc-Pro	405	
		Fmoc-Val	407	
		Z-Ala	268	

【0052】

【表14】

実施例	樹脂 (0.5g)	保護アミノ酸		得られる化合物の酢酸塩の量 (mg)
		種類	量 (mg)	
33	Fmocアミド 樹脂	Fmoc-Ser (tBu)	460	85
		Fmoc-Ser (tBu)	460	
		Fmoc-Asp (O-tBu)	494	
		Fmoc-Gly	357	
		Z-Glu (O-tBu)	405	
34	Fmoc-Asp (O-tBu)-O- Polymer	Fmoc-Pro	405	112
		Fmoc-Gln (Mbh)	714	
		Fmoc-Leu	424	
		Z-Ile	318	
35	Fmocアミド 樹脂	Fmoc-Arg (Pmc)	796	88
		Fmoc-Pro	405	
		Fmoc-Asn (Mbh)	697	
		Fmoc-Arg (Pmc)	796	
		Fmoc-Ala	374	
36	Fmocアミド 樹脂	Fmoc-Lys (Boc)	562	110
		Fmoc-His (Trt)	744	
		Fmoc-Thr (tBu)	441	
		Fmoc-Ala	374	
		Fmoc-Trp	512	
		Fmoc-Glu (O-tBu)	511	

【0053】

【表15】

実施例	樹脂 (0.5g)	保護アミノ酸		得られる化合物の酢酸塩の量(mg)
		種類	量(mg)	
37	Fmocアミド樹脂	Fmoc-Lys(Boc)	562	125
		Fmoc-Lys(Boc)	562	
		Fmoc-Gly	357	
		Fmoc-Glu(O-tBu)	511	
		Fmoc-Asn(Mbh)	697	
38	Fmoc-Ser(tBu)-O-Polymer	Fmoc-Ser(tBu)	460	58
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Glu(O-tBu)	511	
		Z-Glu(O-tBu)	405	
39	Fmocアミド樹脂	Fmoc-Tyr(tBu)	552	125
		Fmoc-Lys(Boc)	562	
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ile	424	
		Fmoc-Ile	424	
40	Fmoc-Asn(Mbh)-O-Polymer	Fmoc-Tyr(tBu)	552	110
		Fmoc-Lys(Boc)	562	
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Ile	424	
41	Fmoc-Leu-O-Polymer	Fmoc-Asp(O-tBu)	494	78
		Fmoc-Gln(Mbh)	714	
		Fmoc-Val	407	
		Z-Thr(tBu)	371	

【0054】

【表16】

実施例	樹脂 (0.5g)	保護アミノ酸		得られる化合物の酢酸塩の量(mg)
		種類	量(mg)	
42	Fmoc-Pro-O-Polymer	Fmoc-Lys(Boc)	562	28
		Fmoc-Leu	424	
		Fmoc-Asp(O-tBu)	494	
		Z-Gln	336	

【0055】実施例2：化合物(2) = Z-Tyr-Ile-Leu-Asp-Gly-OHの合成

実施例1において、表7に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(2)の酢酸塩が得られる。

実施例3：化合物(3) = Z-Glu-Ser-Ser-Lys-Glu-OHの合成

実施例1において、表7に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(3)の酢酸塩が得られる。

実施例4：化合物(4) = Z-Ser-Lys-Glu-Ala-Leu-OHの合成

実施例1において、表7に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(4)の酢酸塩が得られる。

実施例5：化合物(5) = Z-Lys-Glu-Ala-Leu-Ala-OHの合成

実施例1において、表7に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(5)の酢酸塩が得られる。

【0056】実施例6：化合物(6) = Z-Glu-Ala-Leu-Ala-Glu-OHの合成

実施例1において、表7に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(6)の酢酸塩が得られる。

実施例7：化合物(7) = Z-Leu-Ala-Glu-Asn-Asn-OHの合成

実施例1において、表8に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(7)の酢酸塩が得られる。

実施例8：化合物(8) = Z-Gln-Lys-Lys-Ala-Lys-NH<sub>2</sub>の合成

上記化合物の様にC末端がアミド型のペプチドを合成する場合には、実施例1の様にC末端のアミノ酸が既に樹

脂に結合したFmocアミノ酸樹脂の入手ができないことから、表8に記載のFmocアミド樹脂を用いた。この樹脂に、表8に記載の保護アミノ酸を結合させたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(8)の酢酸塩が得られる。

**実施例9**：化合物(9) = Z-Lys-Lys-Ala-Lys-Asn-OHの合成

実施例1において、表8に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(9)の酢酸塩が得られる。

**【0057】実施例10**：化合物(10) = H-Ala-Lys-Asn-Leu-Asp-NH<sub>2</sub> の合成

表8に記載のFmocアミド樹脂及び保護アミノ酸を用い、実施例1と同様にして行うことにより、これらの保護アミノ酸を樹脂に結合させた。次に、N末端のFmoc保護基を除去することを目的として、実施例1における1)~6)の工程を更に行った後、樹脂からの切り出しを行ったこと以外は、実施例1と同様にして行うことにより、化合物(10)の酢酸塩が得られる。

**【0058】実施例11**：化合物(11) = フェニルプロピオン-Lys-Asn-Leu-Asp-Ala-OH の合成

表8に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用い、実施例1と同様にして行うことにより、これらの保護アミノ酸を樹脂に結合させた。次に、20%ピペリジンのDMF溶液で処理することにより、N末端のFmoc保護基を除去したこと、その結果遊離状態になったN末端アミノ酸のアミノ基に、DCC-HOBt法(脱水剤のDCCと反応促進剤のHOBtを用いた脱水縮合反応)により、フェニルプロピオン酸を縮合させたこと以外は、実施例1と同様にして行うことにより、化合物(11)の酢酸塩が得られる。

**【0059】実施例12**：化合物(12) = Z-Ile-Thr-Thr-Pro-Asp-OHの合成

実施例1において、表9に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(12)の酢酸塩が得られる。

**実施例13**：化合物(13) = Z-Asp-Pro-Thr-Thr-Asn-OHの合成

実施例1において、表9に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(13)の酢酸塩が得られる。

**実施例14**：化合物(14) = Z-Ala-Ser-Leu-Leu-Thr-OHの合成

実施例1において、表9に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(14)の酢酸塩が得られる。

**実施例15**：化合物(15) = Z-Leu-Thr-Lys-Leu-Gln-OHの合成

実施例1において、表9に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(15)の酢酸塩が得られる。

り、化合物(15)の酢酸塩が得られる。

**【0060】実施例16**：化合物(16) = Z-Lys-Leu-Gln-Ala-Gln-OHの合成

実施例1において、表9に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(16)の酢酸塩が得られる。

**実施例17**：化合物(17) = Z-Gln-Trp-Leu-Gln-Asp-OHの合成

実施例1において、表10に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(17)の酢酸塩が得られる。

**実施例18**：化合物(18) = H-His-Leu-Ile-Leu-Arg-NH<sub>2</sub> の合成

実施例10において、表10に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例10と同様にして行うことにより、化合物(18)の酢酸塩が得られる。

**【0061】実施例19**：化合物(19) = H-His-Leu-Ile-Leu-Arg-OHの合成

表10に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用い、実施例1と同様にして行うことにより、全ての保護アミノ酸を樹脂に結合させた。次に、N末端のFmoc保護基を除去することを目的として、実施例1において更に上記1)~6)の工程を行った後、樹脂からの切り出しを行ったこと以外は、実施例1と同様にして行うことにより、化合物(19)の酢酸塩が得られる。

**【0062】実施例20**：化合物(20) = H-Leu-Ile-Leu-Arg-NH<sub>2</sub> の合成

実施例10において、表10に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例10と同様にして行うことにより、化合物(20)の酢酸塩が得られる。

**実施例21**：化合物(21) = H-Leu-Arg-NH<sub>2</sub> の合成

実施例10において、表10に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例10と同様にして行うことにより、化合物(21)の酢酸塩が得られる。

**実施例22**：化合物(22) = Z-Leu-Arg-Ser-Phe-Lys-OHの合成

実施例1において、表10に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(22)の酢酸塩が得られる。

**実施例23**：化合物(23) = フェニルプロピオン-Lys-Glu-OHの合成

実施例11において、表11に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例11と同様にして行うことにより、化合物(23)の酢酸塩が得られる。

**実施例24**：化合物(24) = Z-Ser-Ser-Leu-Arg-Ala-OHの合成

実施例1において、表11に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例1と同様にして行うことにより、化合物(24)の酢酸塩が得られる。

**実施例25**：化合物(25) = H-Leu-Arg-Ala-Leu-Arg-NH<sub>2</sub>

## 2 の合成

実施例 10 において、表 11 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 10 と同様にして行うことにより、化合物 (25) の酢酸塩が得られる。

【0063】実施例 26：化合物 (26) =H-Arg-Ala-Leu-Arg-NH<sub>2</sub> の合成

実施例 10 において、表 11 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 10 と同様にして行うことにより、化合物 (26) の酢酸塩が得られる。

実施例 27：化合物 (27) =H-Lys-Glu-Phe-Leu-Gln-Ser-Ser-Leu-Arg-NH<sub>2</sub> の合成

実施例 10 において、表 12 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 10 と同様にして行うことにより、化合物 (27) の酢酸塩が得られる。

実施例 28：化合物 (28) =Z-Glu-Glu-Phe-Gly-Gln-Gly-OH の合成

実施例 1 において、表 12 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 1 と同様にして行うことにより、化合物 (28) の酢酸塩が得られる。

実施例 29：化合物 (29) =H-Ser-Ser-Phe-Tyr-NH<sub>2</sub> の合成

実施例 10 において、表 12 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 10 と同様にして行うことにより、化合物 (29) の酢酸塩が得られる。

実施例 30：化合物 (30) =H-Cys(Acm)-Phe-Arg-Lys-Ser-Pro-Leu-Ser-Asn-Val-Val-Cys(Acm)-OH の合成

実施例 19 において、表 13 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 19 と同様にして行うことにより、化合物 (30) の酢酸塩が得られる。

【0064】実施例 31：化合物 (31) =H-Asn-Ser-Ser-Phe-Tyr-OH の合成

実施例 19 において、表 13 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 19 と同様にして行うことにより、化合物 (31) の酢酸塩が得られる。

実施例 32：化合物 (32) =Z-Ala-Val-Pro-Glu-Gly-OH の合成

実施例 1 において、表 13 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 1 と同様にして行うことにより、化合物 (32) の酢酸塩が得られる。

実施例 33：化合物 (33) =Z-Glu-Gly-Asp-Ser-Ser-NH<sub>2</sub> の合成

実施例 8 において、表 14 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 8 と同様にして行うことにより、化合物 (33) の酢酸塩が得られる。

実施例 34：化合物 (34) =Z-Ile-Leu-Gln-Pro-Asp-OH の合成

実施例 1 において、表 14 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 1 と同様にして行うことにより、化合物 (34) の酢酸塩が得られる。

実施例 35：化合物 (35) =H-Ala-Arg-Asn-Pro-Arg-NH<sub>2</sub> の合成

## 2 の合成

実施例 10 において、表 14 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 10 と同様にして行うことにより、化合物 (35) の酢酸塩が得られる。

【0065】実施例 36：化合物 (36) =H-Glu-Trp-Ala-Thr-His-Lys-NH<sub>2</sub> の合成

実施例 10 において、表 14 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 10 と同様にして行うことにより、化合物 (36) の酢酸塩が得られる。

実施例 37：化合物 (37) =H-Asn-Glu-Gly-Lys-Lys-NH<sub>2</sub> の合成

実施例 10 において、表 15 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 10 と同様にして行うことにより、化合物 (37) の酢酸塩が得られる。

実施例 38：化合物 (38) =Z-Glu-Glu-Leu-Ser-Ser-OH の合成

実施例 1 において、表 15 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 1 と同様にして行うことにより、化合物 (38) の酢酸塩が得られる。

実施例 39：化合物 (39) =H-Ile-Ile-Leu-Lys-Tyr-NH<sub>2</sub> の合成

実施例 10 において、表 15 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 10 と同様にして行うことにより、化合物 (39) の酢酸塩が得られる。

実施例 40：化合物 (40) =H-Ile-Leu-Lys-Tyr-Asn-OH の合成

実施例 19 において、表 15 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 19 と同様にして行うことにより、化合物 (40) の酢酸塩が得られる。

【0066】実施例 41：化合物 (41) =Z-Thr-Val-Gln-Asp-Leu-OH の合成

実施例 1 において、表 15 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと以外は実施例 1 と同様にして行うことにより、化合物 (41) の酢酸塩が得られる。

実施例 42：化合物 (42) =Z-Gln-Asp-Leu-Lys-Pro-OH の合成

実施例 1 において、表 16 に記載の樹脂及び保護アミノ酸を用いたこと、及び Fmoc-Lys(Boc) 導入後の操作で、化合物合成手順 2) での反応時間を 3 分間から 1 分間に変更し、更に 3) の操作を省略したこと以外は実施例 1 と同様にして行うことにより、化合物 (42) の酢酸塩が得られる。

【0067】試験例 1：ヒト SKW 6.4 細胞を用いた IL-6 による IgM 抗体産生抑制試験

ヒトリコンビナント IL-6 (hr IL-6) に対する、本発明に用いられるペプチドの拮抗作用を調べるために、被験物質として、上記実施例で合成した化合物のうち (3), (19) 及び (37) の 3 種類を用い、該化合物を最終濃度が 800 µg/ml になるように適宜希釈した。IgM 抗体産生細胞としてヒト SKW 6.4

細胞を用い、96穴のマイクロプレートの各ウェルに  $1 \times 10^4$  個の上記細胞を加え、上記被験物質及び適量の hr IL-6 と共に、炭酸ガスインキュベーター中で 37℃ で4日間培養した。培養終了後、1200rpm で5分間遠心して得られた培養上清を集め、この上清中に含まれる IgM 抗体量を ELISA 法により定量し \*

$$\text{阻害率 (\%)} = \left\{ 1 - \frac{\left( \frac{\text{被験物質添加時の}}{\text{IgM抗体量}} \right)}{\left( \frac{\text{被験物質非添加時の}}{\text{IgM抗体量}} \right)} \right\} \times 100$$

その測定結果を表17に示す。

【0069】

【表17】

化合物	阻害率 (%)
(3)	93
(19)	81
(37)	96

\*た。なお、対照試験として、被験物質を加えないで上記の方法と同様にして IgM 抗体量を定量した。上記化合物の添加による IgM 抗体産生阻害率を次式により算出した。

【0068】

【数1】

【0070】表17から明らかな様に、化合物(3)、(19)及び(37)はいずれも、IgM抗体産生を著しく阻害することが分かった。

【0071】

【発明の効果】本発明によれば、IL-6に対して拮抗的に作用し、その活性発現を阻害することができるIL-6拮抗剤が提供されるので、IL-6に起因すると考えられる種々の自己免疫疾患の治療薬として有用である。

20

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>

A61K 38/00

C07K 5/10

7/06

7/08

識別記号

ADU

庁内整理番号

8318-4H

8318-4H

FI

技術表示箇所

A61K 37/02

ADU

(72)発明者 木村 仁

つくば市千現1-14-14 パークハイツ千現404号

(72)発明者 妹尾 八郎

門真市千石東町12-1

(72)発明者 関 信男

茨木市橋の内2-12-28-303